

BEST AVAILABLE COPY

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
23 juin 2005 (23.06.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/056828 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C12Q 1/68

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/003115

(22) Date de dépôt international :
3 décembre 2004 (03.12.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0314289 5 décembre 2003 (05.12.2003) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : COM-
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];

31-33 rue de la Fédération, F-75015 Paris (FR). INSERM
(Institut National de la Santé et de la Recherche Médi-
cale) [FR/FR]; 101 rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : MARCHE,
Patrice [FR/FR]; 2 allée du Gaillet, F-38240 Meylan (FR).
JOUVIN-MARCHE, Evelyne [FR/FR]; 2 allée du Gaillet,
F-38240 Meylan (FR). PASQUAL, Nicolas [FR/FR]; 43
allée des Romantiques, F-38100 Grenoble (FR).

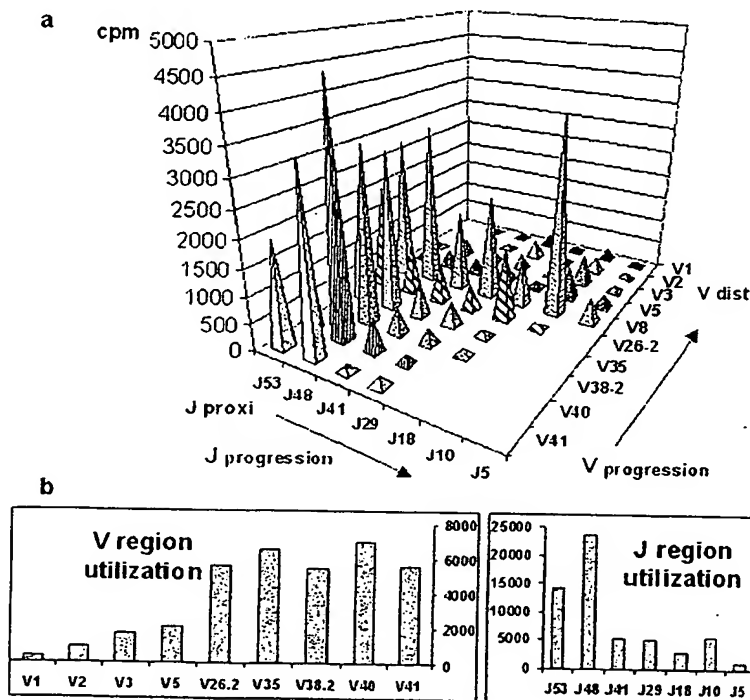
(74) Mandataire : CABINET ORES; 36 rue de St. Péters-
bourg, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR QUANTITATIVE EVALUATION OF A REARRANGEMENT OR A TARGETED GENETIC RE-
COMBINATION OF AN INDIVIDUAL AND USES THEREOF

(54) Titre : PROCEDE D'EVALUATION QUANTITATIVE D'UN REARRANGEMENT OU D'UNE RECOMBINAISON GENE-
TIQUE CIBLEE D'UN INDIVIDU ET SES APPLICATIONS.



(57) Abstract: A method for quan-
titative evaluation of a rearrangement
or targeted genetic recombination
of an individual and the immunity
repertoire of an individual and the
uses thereof, particularly in the case
of follow-up to a treatment or in
the diagnosis and/or prognosis of
certain pathologies. Said method
comprises at least: (a) extraction
of human genomic DNA from a
biological sample, (b) amplification
of a segment of said genomic DNA,
the size thereof ranging from a few
hundreds of base pairs and several
quantities of ten kb by multiplex PCR
in the presence of: one or several
couples of primers, and polymerase
DNA or a polymerase DNA mixture
enabling the amplification of
segments of genomic DNA, the
size thereof ranging from several
hundreds of base pairs and several
quantities of ten kb, having a
corrective effect enabling elongation
to be substantially improved, said
amplification also comprising a stage
of initial denaturation, cycles of
denaturation, hybridation and elongation and wherein the elongation stages are carried out at least during a period of 10 minutes at
68 °C-72 °C; (c) separation of the amplified DNA fragments and (d) detection of the rearranged or recombined segments.

[Suite sur la page suivante]

WO 2005/056828 A1

WO 2005/056828 A1



AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé : Procédé d'évaluation quantitative d'un réarrangement ou d'une recombinaison génétique ciblée d'un individu et notamment du répertoire immunitaire d'un individu et ses applications, notamment dans le suivi d'un traitement ou dans le diagnostic et/ou le pronostic de certaines pathologies. Ledit procédé comprend au moins : (a) l'extraction de l'ADN génomique humain, à partir d'un échantillon biologique, (b) l'amplification d'un segment dudit ADN génomique, de taille comprise entre quelques centaines de paires de bases et plusieurs dizaines de kb, par PCR multiplex, en présence : d'un ou plusieurs couples d'amorces, et d'une ADN polymérase ou d'un mélange d'ADN polymérases permettant l'amplification de segments d'ADN génomique de taille comprise entre quelques centaines de paires de bases et plusieurs dizaines de kb et ayant une activité de correction permettant d'améliorer sensiblement l'élongation ; ladite amplification comprenant outre l'étape de dénaturation initiale, des cycles des cycles de dénaturation, d'extension et de polymérisation ; les étapes d'extension et de polymérisation sont effectuées au moins pendant 10 minutes à 68°C-72°C ; (c)